

文章编号:1005-0108(2007)02-0095-06

中国南海软珊瑚 *Sinularia dissecta* 的化学成分研究

金鹏飞^{1,2}, 林文翰², 邓志威³, 裴月湖⁴, 孙春华¹, 胡欣¹

(1. 卫生部北京医院 药学部, 北京 100730; 2. 北京大学 医学部 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083;
3. 北京师范大学 分析测试中心, 北京 100875; 4. 沈阳药科大学 中药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 研究中国南海软珊瑚 *Sinularia dissecta* 的化学成分。方法 运用色谱方法进行化学成分的分离和纯化, 运用现代波谱技术鉴定各化学成分的结构, 并用 MTT 法和 SRB 法测定部分化学成分对 6 种肿瘤细胞株的细胞毒活性。结果与结论 共分离鉴定了 11 个化学成分, 分别为: (1*S*, 4*R*, 2*E*, 7*E*, 11*E*)-西松烷-2, 7, 11-三烯-4-醇 (1)、(1*S*, 2*E*, 4*E*, 7*E*, 11*E*)-西松烷-2, 4, 7, 11-四烯 (2)、(1*R*, 3*S*, 4*S*, 7*E*, 11*E*)-3, 4-环氧西松烷-7, 11, 15-三烯 (3)、4-甲基-麦角甾-24-烯-3-醇 (4)、26-甲基-麦角甾-5-烯-3-醇 (5)、麦角甾-5, 24-二烯-3-醇 (6)、胆甾-5-烯-3-醇 (7)、鲨肝醇 (8)、对羟基苯甲醛 (9)、尿嘧啶 (10)、胸腺嘧啶脱氧核苷 (11)。化合物 1 对 PC-3MIE8 人前列腺癌细胞的 IC₅₀ 为 2.54 μg·mL⁻¹。所有化合物都是首次从该种软珊瑚中分离得到。通过 2D-NMR 首次对化合物 1 和 4 进行了全归属, 并论证了其立体构型。

关键词:软珊瑚; *Sinularia dissecta*; 化学成分; 西松烷; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A

Chemical constituents from soft coral *Sinularia dissecta* in south China sea

JIN Peng-fei^{1,2}, LIN Wen-han², DENG Zhi-wei³, PEI Yue-hu⁴, SUN Chun-hua¹, Hu Xin¹

(1. *Pharmaceutical Science Department of Beijing Hospital, Ministry of Health, Beijing 100730, China*;
2. *State Key Laboratories of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100083, China*;
3. *Analytical and Test Center, Beijing Normal University, Beijing 100875, China*; 4. *School of Traditional Chinese Material Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China*)

Abstract: **Aim** To investigate the chemical constituents of soft coral *Sinularia dissecta* collected in south China sea. **Methods** The constituents were isolated and purified by repeated chromatography methods and their structures were identified by physicochemical properties and spectral analysis. Some constituents were tested against a panel of six human tumor cell lines by MTT or SRB methods. **Results and conclusion** Eleven compounds were isolated and the structures were identified as (1*S*, 4*R*, 2*E*, 7*E*, 11*E*)-cembran-2, 7, 11-triene-4-ol (1), (1*S*, 2*E*, 4*E*, 7*E*, 11*E*)-cembran-2, 4, 7, 11-tetrene (2), (1*R*, 3*S*, 4*S*, 7*E*, 11*E*)-3, 4-epoxycembran-7, 11, 15-triene (3), 4-methylergost-24-en-3-ol (4), 26-methylergost-5-en-3-ol (5), ergost-5, 24-dien-3-ol (6), cholest-5-en-3-ol (7), batylalcohol (8), 4-hydroxybenzaldehyde (9), uracil (10) and thymidine (11). Compound 1 showed cytotoxic activities against PC-3MIE8 human prostate cancer cell with IC₅₀ 2.54 μg·mL⁻¹. All compounds were firstly isolated from soft coral *Sinularia dissecta* and the full assignments of compounds 1 and 4 were reported.

Key words: soft coral; *Sinularia dissecta*; chemical constituents; cembrane; cytotoxic activity

收稿日期: 2006-08-28

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目 (863 项目, 2001AA620403, 2002AA217081)

作者简介: 金鹏飞 (1979-), 男 (汉族), 浙江衢州人, 主管药师, 博士, 主要从事药品质量控制研究, Tel: (010) 85133621, E-mail: j790101@sohu.com; 裴月湖 (1954-), 男 (汉族), 山西翼城人, 教授, 博士生导师, 主要从事天然药物化学研究, Tel: (024) 23986483, E-mail: peiyueh@vip.163.com。

软珊瑚 *Sinularia dissecta* 广泛分布于热带和亚热带海域,文献报道其化学成分的结构类型包括多羟基甾醇、西松烷类二萜、Africana 型倍半萜以及丙氨酸甲酯衍生物等^[1-15]。其中多羟基甾醇中的 C-18 位氧化的甾体成分是世界上自然界中一类极为罕见的结构,只在软珊瑚和同属的 *S. abrupta* 种软珊瑚中发现过。其中的 sinulabosterol 及其类似物具有很强的抑制免疫球蛋白 E 诱导的大鼠腹膜肥大细胞组胺释放的活性^[16],是一类很有前途的抗过敏候选药物。作者首次对采自中国南海海域的 *Sinularia dissecta* 种软珊瑚进行了系统的化学成分研究。文献^[17]报道了 6 个新颖的多羟基甾醇类成分的分离和鉴定,该文将阐述其他成分的分离鉴定和体外活性。

1 实验部分

熔点用 XT4A 型显微熔点测定仪测定,温度未校正;比旋光用 WZZ-15 自动旋光仪测定;质谱(EIMS)用 AEI-MS-50 型质谱仪测定;NMR 用 Bruker Avance 500 型波谱仪测定(用 TMS 或氘代试剂残留峰作内标)。LG 0.5-II 冷冻干燥机为军事医学科学院实验仪器厂产品;离心机为 Beckmann 公司产品;色谱用硅胶(50~71 μm)及薄层硅胶为青岛海洋化工厂产品;Sephadex LH-20 为 Merck 公司产品。显色剂为 0.01 mol L⁻¹ 的硫酸乙醇溶液;其他常规试剂均为北京化工二厂分析纯试剂。

软珊瑚 *Sinularia dissecta* 于 2003 年 6 月采自中国南海三亚海域,标本存放于北京大学医学部天然药物及仿生药物国家重点实验室海洋组,编号 HSE-15。种名由荷兰阿姆斯特丹大学鉴定。

1.1 提取分离

样品采集后直接浸泡于体积分数 95% 的乙

醇溶液中,切碎匀浆后过滤,滤液减压浓缩后得乙醇层。滤渣用工业甲醇动态提取 3 次,过滤,合并滤液,减压浓缩得甲醇层。再将乙醇提取物和甲醇提取物合并,用甲醇溶解脱盐 3 次,减压浓缩,得总浸膏 9.8 g。

总浸膏在水-乙酸乙酯(体积比 1:1)间分配 3 次,过滤,乙酸乙酯提取物合并后得有机层(4.7 g),水层减压浓缩后得残渣 0.12 kg(干重)。有机层过硅胶柱(50~71 μm),氯仿-甲醇梯度洗脱,得 5 个组分,极性由低到高分别为 Fr. A (1.60 g)、Fr. B (0.54 g)、Fr. C (0.33 g)、Fr. D (0.49 g)、Fr. E (1.40 g)。对各部分利用各种色谱手段进行系统分离。

Fr. A (1.60 g) 用氯仿溶解,过滤,滤液减压浓缩,上 Sephadex LH-20 柱,甲醇洗脱,分成 3 部分。第 2 部分再经硅胶 H 色谱分离(40 μm),石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱得 Fr. A-1 (0.90 g) 和 Fr. A-2 (0.18 g)。Fr. A-1 (0.90 g) 部分极性非常低,反复使用硅胶 H 分离(40 μm),以石油醚、正己烷等低极性溶液洗脱,得到化合物 2 (15 mg)、3 (5.6 mg)。Fr. A-2 (0.18 g) 部分反复使用硅胶 H (40 μm) 分离,用石油醚-乙酸乙酯、石油醚-氯仿、乙醚-乙酸乙酯等系统洗脱,分别得化合物 1 (14 mg)、4 (25 mg)、5 (6 mg)、6 (17 mg)、7 (40 mg)、8 (300 mg) 和 9 (150 mg)。

Fr. E (1.40 g) 用甲醇溶解,过滤,滤液减压浓缩,上 Sephadex LH-20 柱,用甲醇-水(体积比 6:4)洗脱,分成 5 部分,第 2 部分在 TLC 板上,于 254 nm 紫外灯下可见暗斑,硅胶柱色谱分离(50~71 μm),乙酸乙酯-甲醇(体积比 10:1)洗脱,得化合物 10 (7 mg) 和 11 (3 mg)。

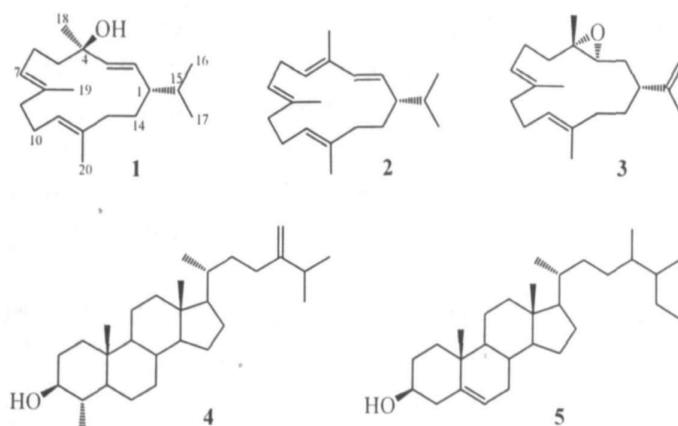


Figure 1 The structures of compounds 1 - 5

1.2 体外细胞毒活性筛选

MTT法:药物与细胞接触48 h后,每孔加入5 mg·mL⁻¹ MTT 20 μL,于37℃、体积分数5%的CO₂中继续培养4 h。快翻法除去上清液,每孔加入DMSO 100 μL,微型振荡器震荡10 min,用酶标仪在570 nm波长下测量每孔的A值,按下列公式计算抑制率:

$$\text{抑制率} = 1 - (\text{对照孔平均 A 值} - \text{加药孔平均 A 值}) \div \text{对照孔平均 A 值} \times 100\%$$

SRB法:药物与细胞接触48 h后,每孔加入4 预冷的0.8 g·mL⁻¹ TCA溶液50 μL,静置片刻,将96孔板移入4℃冰箱放置1 h。取出,用去离子水冲洗培养板5次,自然干燥至无湿痕,每孔再加50 μL 4 mg·mL⁻¹ SRB(以10 mg·mL⁻¹醋酸溶液配制)反应30 min,以10 mg·mL⁻¹醋酸溶液冲洗5次,自然干燥至无湿痕。最后每孔加入Tris缓冲液(pH 10) 100 μL,微型振荡器震荡10 min,用酶标仪在最合适波长490 nm下测量每孔的A值。

实验所用6种肿瘤细胞株:HL-60人白血病细胞(MTT法)、PC-3MIE8人前列腺癌细胞(SRB法)、BGC-823人胃癌细胞(SRB法)、MDA-MB-435人乳腺癌细胞(MTT法)、Bel-7402人肝癌细胞(SRB法)和Hela人宫颈癌细胞(SRB法)。

作者采用上述6种肿瘤细胞株对化合物1~5进行了细胞毒活性的筛选。

1.3 结构鉴定

化合物1:无色油状物,易溶于氯仿,Liebermann反应呈红色, $[\alpha]_D^{20} = +78^\circ (c = 0.22, \text{CHCl}_3)$ 。EFMS m/z (%): 290 [M]⁺ (4)、272 (10)、257 (7)、244 (8)、229 (17)、81 (15)、67 (26)、54 (23)、43 (100)。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 1.55 (1H, m, H-1)、5.22 (1H, dd, $J = 9.0, 15.5$ Hz, H-2)、5.50 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-3)、1.52 (1H, m, H-5a)、1.82 (1H, m, H-5b)、2.19 (2H, m, H-6)、5.15 (1H, dd, $J = 7.0, 7.5$ Hz, H-7)、2.03 (2H, m, H-9)、2.01 (2H, m, H-10)、4.97 (1H, t, $J = 4.0$ Hz, H-11)、1.96 (2H, m, H-13)、1.54 (1H, m, H-14a)、1.23 (1H, m, H-14b)、1.45 (1H, m, H-15)、0.74 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-16)、0.78 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-17)、1.22 (3H, s, H-18)、1.53 (3H, s, H-19)、1.46 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (CDCl₃): 46.5 (d, C-1)、127.4 (d, C-2)、139.2 (s, C-3)、74.2 (s, C-4)、44.4 (t, C-5)、23.9 (t, C-6)、128.2 (d, C-7)、133.3 (s, C-8)、39.4 (t, C-9)、24.1 (t, C-10)、125.2 (d, C-11)、133.0 (s, C-

12)、37.3 (t, C-13)、28.3 (t, C-14)、33.4 (d, C-15)、19.9 (q, C-16)、20.3 (q, C-17)、29.7 (q, C-18)、15.5 (q, C-19)、15.2 (q, C-20)。以上理化性质及波谱数据与文献[18-19]对照一致,故鉴定化合物1为(1*S*, 4*R*, 2*E*, 7*E*, 11*E*)-西松烷-2,7,11-三烯-4-醇。

化合物2:无色油状物,易溶于氯仿,Liebermann反应呈红色, $[\alpha]_D^{20} = +240^\circ (c = 0.45, \text{CHCl}_3)$ 。EFMS m/z (%): 272 [M]⁺ (6)、205 (16)、167 (35)、149 (65)、107 (74)、95 (73)、81 (100)、69 (60)、43 (62)。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 1.65 (1H, m, H-1)、5.29 (1H, dd, $J = 9.0, 15.0$ Hz, H-2)、6.08 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-3)、5.55 (1H, m, H-5)、3.08 (1H, m, H-6a)、2.43 (1H, m, H-6b)、5.20 (1H, dd, $J = 1.5, 6.5$ Hz, H-7)、2.25 (1H, m, H-9a)、2.03 (1H, m, H-9b)、2.32 (1H, m, H-10a)、1.52 (1H, m, H-10b)、4.90 (1H, dd, $J = 6.5, 1.5$ Hz, H-11)、2.02 (2H, m, H-13)、1.70 (1H, m, H-14a)、1.20 (1H, m, H-14b)、1.50 (1H, m, H-15)、0.86 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-16)、0.84 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-17)、1.82 (3H, s, H-18)、1.62 (3H, s, H-19)、1.53 (3H, s, H-20)。¹³C-NMR (CDCl₃): 48.6 (d, C-1)、131.5 (d, C-2)、130.7 (d, C-3)、135.6 (s, C-4)、125.7 (t, C-5)、26.6 (t, C-6)、126.8 (d, C-7)、131.7 (s, C-8)、39.3 (t, C-9)、23.9 (t, C-10)、126.1 (d, C-11)、133.0 (s, C-12)、37.3 (t, C-13)、28.1 (t, C-14)、33.2 (d, C-15)、20.31 (q, C-16)、20.34 (q, C-17)、20.31 (q, C-18)、14.7 (q, C-19)、14.7 (q, C-20)。以上理化性质及波谱数据与文献[19-20]对照一致,故鉴定化合物2为(1*S*, 2*E*, 4*E*, 7*E*, 11*E*)-西松烷-2,4,7,11-四烯。

化合物3:无色油状物,易溶于氯仿,Liebermann反应呈红色, $[\alpha]_D^{20} = +46^\circ (c = 0.80, \text{CHCl}_3)$ 。EFMS m/z (%): 288 [M]⁺ (10)、262 (8)、236 (14)、211 (9)、109 (25)、97 (45)、83 (55)、69 (66)、57 (100)、43 (99)。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 2.87 (1H, d, $J = 10.5, 3.5$ Hz, H-3)、5.12 (1H, m, H-7)、5.13 (1H, m, H-11)、4.71 (1H, s, H-16a)、4.67 (1H, s, H-16b)。¹³C-NMR (CDCl₃): 40.7 (d, C-1)、34.0 (t, C-2)、61.0 (d, C-3)、63.8 (s, C-4)、40.0 (t, C-5)、24.1 (t, C-6)、124.7 (d, C-7)、136.0 (s, C-8)、38.7 (t, C-9)、24.8 (t, C-10)、124.3 (d, C-11)、133.7 (s, C-12)、35.1 (t, C-13)、30.1 (t, C-14)、149.0 (s, C-15)、111.1 (t, C-

16)、18.9 (q, C-17)、16.2 (q, C-18)、17.4 (q, C-19)、17.6 (q, C-20)。以上理化性质及波谱数据与文献[19]对照一致,故鉴定化合物 3 为 (1*R*, 3*S*, 4*S*, 7*E*, 11*E*)-3,4-环氧西松烷-7,11,15-三烯。

化合物 4:白色粉末,易溶于氯仿,Libermann 反应呈紫色, $[\alpha]_D^{20} = +25^\circ (c = 0.12, \text{CHCl}_3)$ 。FAB-MS m/z (%): 415 [M + H]⁺, 397 [M - OH]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 1.70 (1H, m, H-1a)、0.96 (1H, m, H-1b)、1.50 (1H, m, H-2a)、1.81 (1H, m, H-2b)、3.00 (1H, ddd, $J = 6.0, 5.0, 10.0$ Hz, H-3)、1.29 (1H, m, H-4)、0.70 (1H, m, H-5)、1.77 (1H, m, H-6a)、1.79 (1H, m, H-6b)、1.42 (1H, m, H-7a)、1.45 (1H, m, H-7b)、1.46 (1H, m, H-8)、0.64 (1H, m, H-9)、1.60 (1H, m, H-11a)、1.55 (1H, m, H-11b)、2.37 (1H, m, H-12a)、2.34 (1H, m, H-12b)、1.03 (1H, m, H-14)、1.36 (1H, m, H-16a)、1.37 (1H, m, H-16b)、1.78 (1H, m, H-15a)、1.71 (1H, m, H-15b)、1.23 (1H, m, H-17)、0.78 (3H, s, H-18)、0.86 (3H, s, H-19)、1.35 (1H, m, H-20)、1.13 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21)、1.70 (1H, m, H-22a)、1.37 (1H, m, H-22b)、2.30 (1H, m, H-23a)、1.80 (1H, m, H-23b)、2.40 (1H, m, H-25)、1.19 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26)、1.20 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-27)、5.03 (1H, s, H-28a)、5.01 (1H, s, H-28b)、1.12 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-29)。¹³C-NMR (CDCl₃): 37.4 (t, C-1)、28.8 (t, C-2)、76.4 (d, C-3)、39.8 (t, C-4)、51.4 (d, C-5)、24.7 (t, C-6)、31.9 (t, C-7)、30.4 (d, C-8)、55.0 (d, C-9)、36.3 (s, C-10)、21.7 (t, C-11)、40.7 (t, C-12)、43.0 (s, C-13)、57.0 (d, C-14)、24.7 (t, C-15)、28.8 (t, C-16)、56.7 (d, C-17)、12.5 (q, C-18)、13.7 (q, C-19)、35.5 (d, C-20)、19.1 (q, C-21)、35.4 (t, C-22)、31.7 (t, C-23)、156.7 (s, C-24)、34.4 (d, C-25)、22.3 (q, C-26)、22.4 (q, C-27)、106.9 (t, C-28)、15.6 (q, C-29)。以上理化性质及波谱数据与文献[21 - 22]对照一致,故鉴定化合物 4 为 4-甲基-麦角甾-24-烯-3-醇。

化合物 5:白色固体,易溶于氯仿,Libermann 反应呈紫红色。EI-MS (30 eV) m/z (%): 414 [M]⁺ (25)、400 (35)、382 (35)、367 (33)、315 (40)、289 (45)、271 (35)、159 (100)、115 (80)。¹H-NMR (500 MHz, C₆D₆): 5.48 (1H, br s, H-6)、3.52 (1H, m, H-3)、1.07 (3H, s, Me-19)、1.12 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-21)、1.04 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, Me-28)、1.05 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, Me-

27)、0.79 (3H, s, Me-18)、1.01 (3H, t, $J = 6.5$ Hz, Me-29)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): 141.5、121.8、71.8、57.2、56.6、50.7、43.1、42.8、40.3、39.7、37.9、36.8、34.4、32.5、32.4、32.3、32.1、31.3、28.8、24.8、21.6、21.0、19.7、19.4、18.0、15.9、12.3。以上理化性质及波谱数据与文献[23]对照一致,故鉴定化合物 5 为 26-甲基-麦角甾-5-烯-3-醇。

化合物 6:无色针状结晶,易溶于氯仿,难溶于甲醇,Libermann 反应呈紫红色。EI-MS m/z (%): 398 [M]⁺ (20)、383 (22)、365 (12)、314 (98)、299 (60)、281 (55)、271 (100)、229 (60)、213 (40)。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 5.38 (1H, br d, $J = 5.5$ Hz, H-6)、4.74 (1H, s, H-28a)、4.68 (1H, s, H-28b)、3.54 (1H, m, H-3)、0.71 (3H, s, Me-18)、0.97 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-21)、1.04 (3H, s, Me-19)、1.05 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-26)、1.05 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-27)。以上理化性质及波谱数据与文献[24]对照一致,故鉴定化合物 6 为麦角甾-5,24-二烯-3-醇。

化合物 7:白色固体,易溶于氯仿,难溶于甲醇,Libermann 反应呈紫红色。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 5.38 (1H, br s, H-6)、3.55 (1H, m, H-3)、1.03 (3H, s, Me-19)、0.95 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-21)、0.83 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, Me-26)、0.86 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, Me-27)、0.70 (3H, s, Me-18)。¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): 12.3、12.7、19.2、19.4、19.8、20.0、21.5、23.0、23.4、24.7、26.8、28.7、29.3、32.1、32.3、34.3、36.7、37.7、40.2、42.7、46.5、50.5、56.4、57.2、72.2、122.1、141.2。以上理化性质及波谱数据与文献[25 - 26]对照一致,故鉴定化合物 7 为胆甾-5-烯-3-醇。

化合物 8:白色针状晶体,易溶于氯仿。EI-MS (30 eV) m/z (%): 345 [M + H]⁺ (10)、283 (39)、253 (65)、252 (40)、111 (45)、97 (73)、85 (100)、71 (97)、57 (68)。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N): 4.38 (1H, m, H-2)、4.15 (1H, dd, $J = 11.0, 5.0$ Hz, H-1)、3.80 (1H, dd, $J = 11.0, 5.0$ Hz, H-3)、3.52 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, H-1)、0.85 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, Me-H)。以上理化性质及波谱数据与文献[26]对照一致,故鉴定化合物 8 为鲨肝醇。

化合物 9:无色针状结晶,紫外光源 254 nm 下有暗斑, mp 115 ~ 116。 ¹H-NMR (500 MHz, DMSO): 9.90 (1H, s, CHO)、7.84 (2H, d, $J =$

8.5 Hz, 2, 6-H)、7.00(2H, d, $J = 8.4$ Hz, 3, 5-H)。以上理化性质及波谱数据与文献[27]对照基本一致,故鉴定化合物 9 为对羟基苯甲醛。

化合物 10:白色无定形固体,易溶于氯仿-甲醇混合液,微溶于甲醇,不溶于氯仿。紫外光源 254 nm 下有暗斑, mp 316 ~ 317。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO): 11.01 (1H, br s, 3-NH)、10.60 (1H, br s, 1-NH)、7.26 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, 6-H)、1.73 (3H, s, CH_3)。EFMS m/z (%): 126 $[\text{M}]^+$ (55)、112 (40)、83 (40)、55 (65)、43 (100)。以上理化性质及波谱数据与文献[28]对照一致,故鉴定化合物 10 为尿嘧啶。

化合物 11:无色针状结晶,易溶于氯仿-甲醇混合液,微溶于甲醇,不溶于氯仿,紫外光源 254 nm 下有暗斑, mp 187 ~ 189。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO): 11.25 (1H, br s, 3-NH)、7.60 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, 6-H)、1.70 (3H, s, CH_3)、6.10 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, 5-OH)、5.20 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, 3-OH)、4.99 (1H, t, $J = 5.0$ Hz, H-1)、4.21 (1H, br s, H-4)、3.54 (2H, m, H-5)、2.05 (2H, m, H-2)。EFMS m/z (%): 242 $[\text{M}]^+$ (11)、206 (14)、150 (40)、126 (25)、117 (33)、99

(30)、69 (100)、43 (97)。以上理化性质及波谱数据与文献[28]对照一致,故鉴定化合物 11 为胸腺嘧啶脱氧核苷。

2 结果与讨论

作者首次用 2D-NMR 对化合物 1 进行了全归属,并进一步论证了其结构。HMBC 谱图上的相关信号(见图 2)能完整地构建出化合物 1 的结构。通过与文献对照波谱数据和 $[\text{J}]_{\text{D}}^{20}$ 值可确定其立体构型:因为 1 的 $[\text{J}]_{\text{D}}^{20}$ 值为 $+78^\circ$ (文献[18]: $[\text{J}]_{\text{D}}^{20} + 74^\circ$),若是 *R* 构型,则应出现在 -118° 左右^[19],故确定其 C-1 位为 *S* 构型。化合物 2 和 3 的立体构型通过同样的对照原则也得到确认。

化合物 4 A、B 环部分的结构通过 HMBC 相关谱得到进一步的证实。这是首次对该化合物的碳谱进行报道,并通过 2D-NMR 对其碳氢进行了全归属。氢谱上, H-3 (3.00, ddd) 的 J 值分别为 11.0、10.0、5.0 Hz,说明 H-3 和 H-4 同处于直立键,从而推测甲基处于 C-4 的位上。NOESY 谱图上的 19-Me/H-4、H-3/H-5、H-3/29-Me 等关键相关信号(见图 2)能进一步论证甲基处于 4 位,并能确定 A/B 环之间为反式连接。

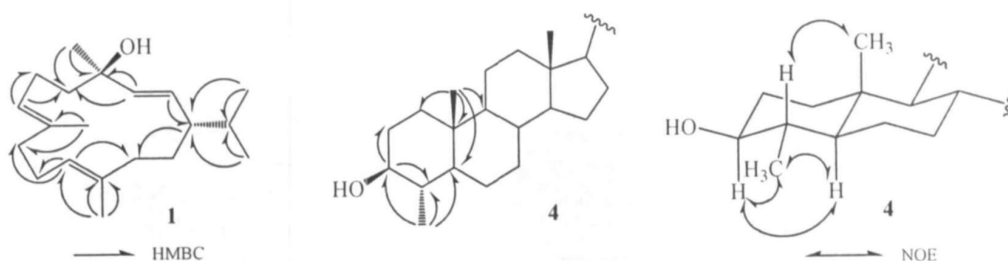


Figure 2 key HMBC correlations of 1 and 4, and key NOE correlations of 4

对化合物 1~5 的细胞毒活性筛选结果显示:在 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度下,除了 1 对 PC-3MIE8 人前列腺癌细胞的抑制率达 83.11%(见表 1)外,化合物 2~5 对 6 种肿瘤细胞的抑制率都低于 50%,活性较弱。对活性较强的化合物 1 进行复

筛,结果显示,其对 PC-3MIE8 人前列腺癌细胞的 IC_{50} 为 $2.54 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。化合物 1、2、3 之间的活性差异表明,对于异丙基型西松烯二萜类成分, C-4 位上的羟基取代是细胞毒的活性中心之一。

Table 1 The inhibition ratio and IC_{50} values of compound 1 against six tumor cell lines

Tumor cells	Inhibition ratio/ %			$\text{IC}_{50}/ (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
	$1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	
HL-60	0.90	28.37	77.43	> 10
PC-3MIE8	5.25	83.11	92.15	2.54
BGC-823	8.76	25.12	95.59	> 10
MDA-MB-435	2.26	1.90	7.00	> 10
Bel-7402	2.99	32.59	1.60	> 10
Hela	15.70	22.51	97.08	> 10

参考文献:

- [1] JAGODZINSKA B M, TRIMMER J S, FENICAL W, et al. Sterols in marine invertebrates. 51. Isolation and structure elucidation of C-18 functionalised sterols from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. J Org Chem, 1985, 50(16): 2988 - 2992.
- [2] JAGODZINSKA B M, TRIMMER J S, FENICAL W, et al. Sterols in marine invertebrates. 49. Isolation and structure elucidation of 8 new polyhydroxylated sterols from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. J Org Chem, 1985, 50(9): 1435 - 1439.
- [3] REDDY M V R, LAKSHMAN S, RAO A V R, et al. A new diterpene from a soft coral, *Sinularia dissecta* [J]. J Nat Prod, 1993, 56(6): 970 - 972.
- [4] VENKATESWARLU Y, BIABANI M A F, REDDY M V R, et al. Mandapamate, a diterpenoid from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. Tetrahedron Lett, 1994, 35(14): 2249 - 2252.
- [5] KOBAYASHI M, RAO K M C A, KRISHNA M M, et al. Marine sterols. 30. Isolation of 24-methylenecholestane-1- α , 3- β , 5- α , 6- β , 11- α -pentol and its 11-monoacetate from soft coral *Sinularia dissecta* [J]. J Chem Res (Synopses), 1994(5): 180 - 181.
- [6] KOBAYASHI M, RAO K M C A, KRISHNA M M, et al. Marine terpenes and terpenoids. Part 19. Structure of a tetracyclic norcembranolid derivative isolated from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. J Chem Res (Synopses), 1995(6): 188 - 189.
- [7] RAMESH P, REDDY N S, VENKATESWARLU Y, et al. Rameswaralide, a novel diterpenoid from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. Tetrahedron Lett, 1998, 39(45): 8217 - 8220.
- [8] BORTOLOTTO M, BRAEKMAN J C, DALOZE D, et al. Chemical studies of marine invertebrates. Four novel polyhydroxylated sterols from *Sinularia dissecta* (Coelenterata, Octocorallia, Alcyonacea) [J]. Bull Soc Chim Belg, 1976, 85(1): 27 - 34.
- [9] VENKATESWARLU Y, RAMESH P, REDDY N S, et al. A novel polyhydroxylated epoxy steroid from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. Nat Prod Lett, 1999, 13(3): 229 - 232.
- [10] RAMESH P, REDDY N S, RAO T P, et al. A 2-methyl- γ -alanine methyl ester derivative from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. Biochem System Ecol, 1999, 27(6): 661 - 662.
- [11] RAMESH P, REDDY N S, RAO T P, et al. New oxygenated africanenes from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. J Nat Prod, 1999, 62(7): 1019 - 1021.
- [12] RAMESH P, VENKATESWARLU Y. Novel steroid constituents of the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. Steroids, 1999, 64(5): 785 - 789.
- [13] RAMESH P, VENKATESWARLU Y. Unusual terpenoid constituents of the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. J Chem Res (Synopses), 2000(1): 48 - 50.
- [14] RAMESH P, RAVIKANTH V, VENKATESWARLU Y. New sesquiterpenoid from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. Indian J Chem, 2001, 40(B): 867 - 868.
- [15] REDDY N S, GOUD T V, VENKATESWARLU Y. Seco-sethukarailin, a novel diterpenoid from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. J Nat Prod, 2002, 65(10): 1059 - 1060.
- [16] SHOJI N, UMEYAMA A, TAKEI M, et al. Potent inhibitors of histamine release: polyhydroxylated sterols from the Okinawa soft coral *Sinularia abrupta* [J]. J Pharm Sci, 1994, 83(5): 761 - 762.
- [17] JIN P F, DENG Z W, PEI Y H, et al. Polyhydroxylated sterols from the soft coral *Sinularia dissecta* [J]. Steroids, 2005, 70(8): 487 - 493.
- [18] KIMLAND B, NORIN J. Chemistry of the order Finales. Thunbergol a new macrocyclic diterpene alcohol [J]. Acta Chem Scand, 1968, 22: 943 - 948.
- [19] BRUCE F B, JOHN C C, SARAH J M, et al. Studies of Australian soft corals. Two cembranoid diterpenes from the soft coral *Sinularia facile* [J]. Aust J Chem, 1981, 34: 1551 - 1556.
- [20] DAUBRN W G, THIESSEN W E, RESNICK P R. Cembrene, a fourteen-member ring diterpene hydrocarbon [J]. J Org Chem, 1965, 30: 1693.
- [21] KOBAYASHI M, TAKASHI I, HIROSHI M. Marine sterols. Minor constituents of the sterols of the soft coral *Sarcophyton glaucum* [J]. Steroids, 1982, 40(2): 209 - 219.
- [22] KOKKE W C M C, BOHLIN L, FENICAL W, et al. Minor and trace sterols of marine invertebrates. 25. Novel dinoflagellate 4 α -methyl sterols from four Caribbean gorgonians [J]. Phytochemistry, 1982, 21(4): 881 - 887.
- [23] 孟艳辉, 苏镜娱, 曾陇梅. 海绵 *Hircinia variabilis* 化学成分研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1993, 32(2): 90 - 92.
- [24] 马祥全, 张广文, 苏镜娱, 等. 格氏短指软珊瑚的次生代谢产物研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2002, 41(6): 38 - 41.
- [25] 于德泉, 杨俊山. 分析化学手册. 第 7 分册: 核磁共振波谱分析 [M]. 第 2 版. 北京: 化学工业出版社, 1999: 892 - 893.
- [26] 杨晋, 漆淑华, 张德, 等. 网状软柳珊瑚化学成分研究 [J]. 中药材, 2006, 29(6): 555 - 557.
- [27] 梁利岩, 邓松之, 吴厚铭. 南海海绵 *Axinyssa aphysinoides* 的化学成分研究 [J]. 中国海洋药物, 2001, 20(2): 1 - 4.
- [28] 付宏征, 张晓威, 张礼和, 等. 黄海葵的化学成分研究 (1) [J]. 中国海洋药物, 1998, 17(1): 13 - 16.